

**EFEK INFUSA DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida* L.)
SEBAGAI ANTI MIKROBA TERHADAP BAKTERI ENTERIK
(famili Enterobacteriaceae) PADA TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*) GALUR Sprague-Dawley DENGAN
KEKURANGAN ENERGI PROTEIN (KEP)**



SISKA

I111 12 019

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
2015**

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

**EFEK INFUSA DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida* L.)
SEBAGAI ANTIMIKROBA TERHADAP BAKTERI ENTERIK
(famili *Enterobacteriaceae*) PADA TIKUS PUTIH (*Rattus
norvegicus*) GALUR *Sprague-Dawley* DENGAN
KEKURANGAN ENERGI PROTEIN**

Tanggung Jawab Yuridis Material Pada


SISKA


NIM 111112019

Disetujui Oleh

Pembimbing Utama


Pembimbing Kedua



Agustina Arundina T.T., S.Gz, MPH
NIP. 198208032009122003


dr. Ita Armyanti
NIP. 198110042008012011

Penguji Pertama

Penguji Kedua


dr. lit Fitrianingrum
NIP. 198207222008122002


dr. Sari Rahmayanti
NIP. 198705082014042001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura


dr. Arif Wicaksono, M. Biomed
NIP. 198310302008121002

EFEK INFUSA DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida* L.) SEBAGAI ANTI MIKROBA TERHADAP BAKTERI ENTERIK (famili *Enterobacteriaceae*) PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) GALUR Sprague-Dawley DENGAN KEKURANGAN ENERGI PROTEIN (KEP)

Siska¹; Agustina Arundina²; Ita Armyanti³

Intisari

Latar Belakang: Kekurangan energi protein (KEP) dapat menyebabkan peningkatan angka kematian melalui komplikasi diare akut. Diare akut pada KEP sering disebabkan oleh infeksi bakteri enterik yang dipicu oleh peningkatan kolonisasi bakteri enterik disaluran pencernaan. Tanaman mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) memiliki kandungan metabolit sekunder berupa steroid/triterpenoid, flavonoid, fenol, dan saponin yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram negatif penyebab gangguan saluran pencernaan. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi daun mangga bacang sebagai agen anti mikroba pada bakteri enterik yang terdapat pada tikus *Sprague dawley* dengan KEP dengan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), dan jumlah koloni bakteri. **Metodologi:** Penelitian menggunakan tikus *Sprague-Dawley* yang dikondisikan malnutrisi selama 7 hari. Isolasi bakteri enterik dilakukan dengan metode usap rektal. Infusa daun mangga bacang dibuat dalam variasi konsentrasi dosis 15, 30, 60 dan 120 mg/ml. Infusa yang diperoleh dilakukan uji fitokimia dan uji aktivitas antibakteri dengan metode uji tabung, metode tabung dilusi dan metode tuang (*pour plate*) terhadap bakteri enterik yang diisolasi dari spesimen usap rektal. **Hasil:** Bakteri yang diisolasi dari spesimen usap rektal tikus *Sprague-Dawley* adalah *Escherichia coli*. Kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada infusa daun mangga bacang yaitu alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, dan tanin. KHM dan KBM infusa daun mangga bacang tidak dapat ditentukan. Infusa daun mangga bacang pada dosis 15 mg/ml ($p=0,035$), 30 mg/ml ($p=0,001$), 60 mg/ml ($p<0,001$) dan 120 mg/ml ($p<0,001$) memiliki aktivitas anti bakteri dengan dosis efektif pada 120 mg/ml ($p<0,001$). **Kesimpulan:** Infusa daun mangga bacang memiliki aktivitas antibakteri terhadap anggota famili bakteri enterik yaitu *Escherichia coli*.

Kata Kunci: Anti bakteri, Famili *Enterobacteriaceae*, Infusa daun mangga bacang, KEP, KBM, KHM

1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat

2) Departemen Ilmu Kesehatan Masyarakat, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.

3) Departemen Farmakologi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat.

THE EFFECT OF BACANG MANGO (*Mangifera foetida* L.) LEAVES WATER EXTRACTS AS ANTIMICROBIAL AGAINST ENTERIC BACTERIA (famili Enterobacteriaceae) IN Sprague dawley RATS WITH PROTEIN ENERGY MALNUTRITION (PEM)

Siska¹; Agustina Arundina²; Ita Armyanti³

Abstract

Background: Protein energy malnutrition (PEM) caused increased of mortality rates through its common complication, acute diarrhea. Acute diarrhea in PEM caused increase of enteric bacteria colonization in gastrointestinal tract that triggered enteric bacteria infection. Bacang mango (*Mangifera foetida* L.) contained secondary metabolites such as steroids/triterpenoids, flavonoids, fenols, and saponins that have antibacterial activity against gram negative bacteria that caused gastrointestinal tract infection. **Objective:** This study aimed to investigated bacang mango leaves potential as antimicrobial against enteric bacteria in Sprague dawley rats with PEM by determined the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (MBC), and quantity of bacteria colonies. **Method:** This study used Sprague-Dawley rats that had given malnutrition treatment in 7 days. Isolation of enteric bacteria was performed by rectal swab method. The water extracts of bacang mango leaves were made in variated doses; 15, 30, 60, and 120 mg/ml. Obtained water extracts were performed phytochemical screening and antibacterial activity test by test tube method, tube dillution method and pour plate method against isolated enteric bacteria from swab rectal specimen. **Results:** Enteric bacteria isolated from Sprague dawley rectal swab specimen was *Escherichia coli*. Secondary metabolites contained in the water extracts of bacang mango leaves were alkaloids, phenols, flavonoids, saponins, and tannins. MIC and MBC of bacang mango leaves water extracts can't be determined. Bacang mango leaves water extracts in doses 15 mg/ml ($p=0,035$), 30 mg/ml ($p=0,001$), 60 mg/ml ($p<0,001$), and 120 mg/ml ($p<0,001$) have antibacterial activity and the most effective dose was 120 mg/ml ($p<0,001$). **Conclusion:** Bacang mango leaves water extracts have antibacterial activity against one of enteric bacteria family, *Escherihia coli*.

Keywords: Antibacterial, Enterobacteriaceae family, Bacang mango leaves water extract, PEM, MBC, MIC

1) Medical School, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Kalimantan.

2) Department of Public Health, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Kalimantan.

3) Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Kalimantan.

LATAR BELAKANG

Kekurangan energi protein (KEP) merupakan salah satu masalah gizi utama di Indonesia yang sangat kompleks.¹ Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada tahun 2012 menyatakan bahwa kasus gizi kurang pada tahun 2012 sebanyak 8,22% dan gizi buruk sebanyak 1,55%.² Kasus KEP yang tinggi tersebut secara langsung maupun tidak langsung dapat menyebabkan peningkatan angka kematian bayi dan balita yang disebabkan oleh komplikasi tersering yang ditimbulkan KEP yaitu infeksi.³⁻⁷

Diare akut pada KEP sering disebabkan oleh infeksi bakteri pada saluran cerna yang diakibatkan penurunan sistem imun.⁸ Hal ini dikarenakan keadaan penurunan sistem imun dapat mengganggu keseimbangan bakteri di usus yang memicu peningkatan kolonisasi bakteri sehingga terjadi infeksi saluran pencernaan yang bermanifestasi sebagai diare akut.^{8,9} Bakteri yang sering menyebabkan infeksi antara lain adalah famili *Enterobacteriaceae* yang memiliki laju kolonisasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri gram positif dan organisme anaerobik.⁸⁻¹⁰

Tanaman mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) merupakan tanaman khas daerah Kalimantan barat yang mempunyai potensi sebagai tanaman herbal. Penelitian yang dilakukan oleh Purwaningsih *et al* pada tahun 2011 di Universitas Indonesia Jakarta menunjukkan bahwa *Mangifera foetida* L. memiliki kandungan metabolit sekunder berupa Steroid/triterpenoid, flavonoid, fenol dan saponin.¹¹ Metabolit-metabolit sekunder ini telah terbukti memiliki efek sebagai anti bakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Nuryanto A pada tahun 2014 di Universitas Tanjungpura Pontianak juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *Mangifera foetida* L. terbukti memiliki aktivitas anti bakteri terhadap salah satu anggota famili *Enterobacteriaceae* yaitu *Escherichia coli* pada dosis 7,8125 mg/ml.¹² Berdasarkan hasil penelitian-penelitian tersebut diduga infusa daun *Mangifera foetida* L. dapat berperan sebagai agen anti mikroba dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri famili *Enterobacteriaceae* pada keadaan KEP.

BAHAN DAN METODE

Alat

Peralatan pemeliharaan hewan coba (kandang tempat makan, tempat minum), pisau, sikat, plastik, blender, wadah plastik, panci infusa, penangas

air, batang pengaduk, kertas flannel, tabung erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, vial steril, inkubator, rak tabung, pipet tetes, pipet ukur, lemari asam, neraca analitik, autoklaf, bunsen, penjepit, seperangkat alat kaca, handscoon, dan masker.

Bahan Uji

Daun *Mangifera foetida* L., Bakteri famili *Enterobacteriaceae* dari usap rektal tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* dengan KEP, pakan hewan standar, akuades steril, Aluminium foil, kertas saring, kertas sampul coklat, plastik tahan panas, kapas, besi (III) klorida (FeCl_3) 1%, Magnesium (Mg), asam klorida (HCl) pekat, besi (III) klorida (FeCl_3) 5%, asam asetat (CH_3COOH) glasial, Asam sulfat (H_2SO_4) pekat, kloroform (CH_3Cl), pereaksi *mayer*, pereaksi *wagner*, cotton *tipped applicator*, kapas, kaldu *Mueller-Hinton*, larutan standar *Mc. Farland* 0,5, siprofloksasin, ose, Media agar *Eosin Methylene-Blue* (EMB), Media agar *Mueller-Hinton*, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), Agar *Simmons* Sitrat, Medium Agar *Sulphide Indole Motility* (SIM), dan Media Agar *MacConkey* (MCA).

Metode

Pengkondisian Malnutrisi pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur *Sprague dawley*

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* berusia 3 minggu dengan berat rata-rata 52 gram yang telah di aklimatisasi selama 2 minggu sebanyak 1 ekor mendapat pengurangan makanan 50% selama 7 hari; minuman secara *ad libitum*.

Pembuatan Simplisia

Daun mangga bacang yang masih dalam kondisi segar dan berwarna hijau dipetik dari pohonnya pada pagi hari di desa Wajok Kecamatan Siantan Kabupaten Pontianak dan langsung disortasi bagian yang tidak digunakan, kotor dan rusak serta dicuci dengan air PDAM sampai bersih. Daun yang telah disortasi dan dicuci, dirajang kasar menjadi potongan kecil dan kemudian dikeringkan dengan cara dianginkan selama 14 hari di dalam ruangan. Daun yang telah kering dikecilkan ukurannya dengan cara menggunakan blender.

Pembuatan Infusa

Sebanyak 100 g serbuk simplisia dimasukkan kedalam panci infusa dan ditambahkan akuades steril hingga 100 ml. Simplisia kemudian dipanaskan

diatas penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Saring air hasil rebusan dengan menggunakan kertas *flannel* steril selagi panas dan jika infusa yang dihasilkan kurang dari 100 ml, maka ditambahkan akuades steril hingga 100 ml konsentrasi infusa yaitu 100%.

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan fitokimia dilakukan terhadap alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin dan steroid/triterpenoid.

Pembuatan Media

Media uji yang dibuat dalam penelitian ini adalah media agar *MacConkey*, media *Nutrient Agar* (NA), media agar *Eosin Methylene Blue* (EMB), media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), media agar *Simmons* Sitrat, medium agar *Sulphide Indole Motility* (SIM), kaldu *Mueller-Hinton*, dan media *Mueller-Hinton Agar* (MHA).

Pengambilan Spesimen Usap Rektal

Hewan coba diberikan anestesi berupa kloroform sebelum pengambilan spesimen usap rektal. Spesimen usap rektal diambil dengan cara memasukkan *cotton-tipped applicator* (CTA) kedalam canalis analis dengan hati-hati dan diputar searah jarum jam sembari dikeluarkan dari canalis analis hewan coba. CTA kemudian digores pada agar *MacConkey* yang telah disediakan. Agar *MacConkey* berisi spesimen usap rektal tersebut kemudian di inkubasi pada suhu 38°C selama 24 jam.

Identifikasi Bakteri Uji

Bakteri uji diidentifikasi dengan menggunakan identifikasi gram bakteri melalui pewarnaan gram dan identifikasi khusus bakteri melalui Agar *Eosin Methylene Blue* (EMB), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), uji Indol, uji *Simmons* Sitrat, dan uji Motilitas.

Kontrol

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah gabungan antara 1 ml suspensi bakteri dan 1 ml kaldu *Mueller-Hinton* sedangkan kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah gabungan antara 1 ml infusa daun *Mangifera foetida* L. dengan 1 ml kaldu *Mueller-Hinton*.

Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan larutan uji infusa daun mangga bacang dibuat variasi konsentrasi yaitu 15 mg/ml, 30 mg/ml, 60 mg/ml, dan 120 mg/ml.

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Dua puluh empat (24) tabung steril volume 5 ml disediakan untuk 4 kelompok perlakuan dengan kontrol positif (kontrol pertumbuhan bakteri), kontrol negatif (infusa daun *Mangifera foetida* L. dengan kaldu *Mueller-Hinton*). Setiap tabung diberikan penomoran. Tabung perlakuan (nomor 1-4), kontrol positif (nomor 5), dan kontrol negatif (nomor 6). Tabung ke-1 sampai ke-4 dimasukkan 1 ml infusa daun *Mangifera foetida* L. dengan masing-masing dosis, yaitu 15 mg/ml, 30 mg/ml, 60 mg/ml, dan 120 mg/ml, tabung ke-5 dimasukkan 1ml larutan *Mueller-Hinton* cair, dan tabung ke-6 dimasukkan 1 ml infusa daun mangga bacang dosis 120 mg/ml dan 1 ml larutan *Mueller-Hinton* cair. Tabung ke-1 sampai ke-5 kemudian juga dimasukkan masing-masing 1 ml suspensi bakteri yang telah distandarisasi oleh standar Mcfarland 0,5. Seluruh tabung uji ditutup dengan kapas steril untuk menghindari kontaminasi dan kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam. Setiap kelompok perlakuan dan kontrol dilakukan 4 kali pengulangan.

Uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Seluruh tabung uji, tabung kontrol negatif, dan tabung kontrol positif dilakukan pengenceran sebanyak tiga kali. Larutan pada tabung uji ke-1 diambil sebanyak 1 ml menggunakan mikropipet steril dan dituang kedalam cawan petri. Agar *Mueller-Hinton* sebanyak 20 ml juga dituang kedalam cawan petri berisi larutan tabung uji ke-1. Cawan petri kemudian digerakkan membentuk angka delapan secara teratur hingga tercampur merata. Cawan petri dibiarkan hingga agar *Mueller-Hinton* menjadi padat dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Ulangi hal yang serupa pada tabung uji ke-2 sampai tabung uji ke-6. Setelah menghitung jumlah koloni, jumlah koloni yang tumbuh dikalikan 10^3 karena pengenceran tabung sebanyak 3 kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan skrining fitokimia infusa daun mangga bacang dilakukan di Laboratorium Non-mikroskopik Fakultas Kedokteran UNTAN. Berdasarkan skrining tersebut didapatkan hasil positif pada alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, dan tanin. Sementara untuk steroid dan triterpenoid hasilnya negatif. Hasil skrining fitokimia infusa daun mangga bacang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1 Hasil Skrining Fitokimia Infusa Daun Mangga Bacang

Skrining Fitokimia	Reaksi	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Pereaksi <i>Mayer</i>	+	Terbentuk endapan berwarna putih
	Pereaksi <i>Wagner</i>	+	Terbentuk endapan berwarna coklat
Fenol	FeCl ₃ 1%	+	Terbentuk warna biru tua
Flavonoid	HCl pekat	+	Terbentuk warna kuning
Saponin	Metode <i>Forth</i>	+	Terbentuk busa yang dapat bertahan lebih dari 10 menit
Steroid	<i>Liebermann-Burchard</i>	-	Terbentuk cincin berwarna hijau
Tanin	FeCl ₃ 3%	+	Terbentuk warna hitam
	Gelatin	+	Terbentuk endapan berwarna putih
Triterpenoid	<i>Liebermann-Burchard</i>	-	Terbentuk cincin berwarna merah

Pengkondisian Malnutrisi pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague dawley

Pengkondisian malnutrisi dilakukan dengan mengurangi jumlah makanan tikus sebanyak 50% dari porsi makanan tikus normal, dimana minuman diberikan secara *ad libitum*. Indikator hewan coba mengalami malnutrisi ditentukan dengan cara membandingkan berat badan tikus yang dikondisikan malnutrisi (Tikus 1) dengan tikus normal (Tikus 2). Tikus 1 dan tikus 2 berusia 3 minggu dengan berat badan masing-masing 74,3 gram dan 79 gram yang telah di aklimatisasi selama 2 minggu mendapat perlakuan masing-masing untuk tikus 1 yaitu pengurangan makanan sebanyak 50% selama 7 hari; minuman secara *ad libitum* dan untuk tikus 2 pemberian makanan dan minuman secara *ad libitum*. Penimbangan berat badan dilakukan setelah 7

hari pengkondisian malnutrisi dengan menggunakan timbangan hewan coba dan didapatkan hasil yaitu berat badan tikus 1 dan tikus 2 masing-masing sebesar 73,8 gram dan 93,5 gram. Hasil tersebut menunjukkan penurunan berat badan tikus 1 sebanyak 21,1% dari tikus 2 yang tidak dikondisikan malnutrisi.

Hasil Identifikasi Bakteri Uji

Koloni bakteri yang tumbuh pada agar *MacConkey* setelah diinkubasi pada suhu 38°C selama 24 jam menunjukkan gambaran koloni berukuran sedang, berwarna merah bata, *smooth*, dan sedikit cembung. Gambaran koloni tersebut merupakan ciri khas dari famili *Enterobacteriaceae*.^{13,14} Hasil pewarnaan gram terhadap biakan 24 jam pada agar *MacConkey* menunjukkan bakteri yang terlihat memiliki sifat gram negatif berbentuk batang dengan susunan batang tunggal dan *coccobacil*. Hasil pewarnaan sesuai dengan ciri khas dari bakteri enterik dimana bakteri berbentuk batang dan berwarna merah yang menandakan bahwa bakteri merupakan bakteri gram negatif.^{15,16}

Hasil biakan pada Agar *Eosin Methylene Blue* (EMB) menunjukkan warna *metallic green* yang merupakan ciri khas dari bakteri *Escherichia coli*.¹⁷ Hasil inkubasi isolat bakteri pada TSIA selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil berwarna kuning pada bagian miring maupun pangkal dari agar dan tidak dihasilkannya H₂S. Bakteri famili *Enterobacteriaceae* yang dapat menunjukkan hasil tersebut antara lain adalah *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, dan *Serratia sp.*^{15,18} Hasil uji *Simmons* sitrat, uji Indol, dan uji Motilitas dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 2. Hasil uji *Simmons* sitrat, uji Indol, dan uji Motilitas

Jenis Uji	Hasil Uji
Uji <i>Simmons</i> sitrat	-
Uji Indol	+
Uji Motilitas	+

Dari hasil identifikasi umum maupun identifikasi khusus dapat disimpulkan bahwa isolat bakteri merupakan anggota famili *Enterobacteriaceae* yaitu *Escherichia coli*.¹⁵⁻¹⁷

Hasil Aktivitas Antibakteri Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Escherichia coli*

Hasil aktivitas antibakteri daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Escherichia coli* dengan metode tabung dilusi untuk mengukur KHM infusa dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimum

Konsentrasi Ekstrak	Konsentrasi Hambat Minimum Infusa
Kontrol (-)	Jernih
Kontrol (+)	Keruh
15 mg/ml	Keruh
30 mg/ml	Keruh
60 mg/ml	Keruh
120 mg/ml	Keruh

Hasil perhitungan jumlah koloni pada setiap tabung uji, tabung kontrol negatif, dan tabung kontrol positif tercantum pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil hitung koloni

Konsentrasi	Jumlah koloni pengulangan ke-				Rata-rata
	1	2	3	4	
K (-)	0	0	0	0	0
K (+)	139.000	150.000	162.000	146.000	149.250
15 mg/ml	132.000	142.000	145.000	119.000	134.500
30 mg/ml	120.000	113.000	141.000	123.000	124.250
60 mg/ml	114.000	113.000	118.000	120.000	116.250
120 mg/ml	112.000	103.000	119.000	94.000	107.000

KBM pada penelitian ini tidak dapat ditentukan karena konsentrasi tertinggi yaitu 120 mg/ml masih ditumbuhi bakteri sebanyak rata-rata 107.000 koloni. Data pada tabel 4 diuji secara statistik dengan bantuan program *SPSS for Windows 20*. Hasil uji *One-Way Anova* menunjukkan bahwa paling tidak terdapat dua kelompok yang memiliki jumlah koloni yang berbeda secara bermakna ($p < 0,001$). Uji *One-Way Anova* dilanjutkan dengan analisis *Post-Hoc* LSD.

Analisis *Post-Hoc* LSD dikatakan bermakna apabila nilai $p < 0,05$. Kelompok kontrol positif dibandingkan masing-masing dengan keempat kelompok dosis dan diperoleh nilai $p = 0,035$ pada kelompok dosis 15 mg/ml, nilai $p = 0,001$

pada kelompok dosis 30 mg/ml, nilai $p < 0,001$ pada kelompok dosis 60 mg/ml, dan nilai $p < 0,001$ pada kelompok dosis 120 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa rata-rata jumlah koloni bakteri lebih sedikit pada kelompok dosis secara bermakna dibandingkan dengan kontrol positif. Perbandingan antar kelompok dosis juga diuji dengan analisis *Post-Hoc* LSD. Analisis *Post-Hoc* LSD dilakukan terhadap kelompok dosis dua kali lipat dengan kelompok dosis yang dibandingkan. Analisis terhadap kelompok dosis 15 mg/ml dan kelompok dosis 30 mg/ml diperoleh nilai $p = 0,130$, pada kelompok dosis 30 mg/ml dan kelompok dosis 60 mg/ml diperoleh nilai $p = 0,232$, dan pada kelompok dosis 60 mg/ml dan kelompok dosis 120 mg/ml diperoleh nilai $p = 0,170$. Hal ini menunjukkan bahwa rata-rata jumlah koloni bakteri lebih sedikit pada kelompok dosis dua kali lipat secara tidak bermakna daripada kelompok dosis yang dibandingkan. Analisis *Post-Hoc* LSD juga dilakukan terhadap kelompok dosis empat kali lipat dengan kelompok dosis yang dibandingkan. Analisis terhadap kelompok dosis 15 mg/ml dan kelompok dosis 60 mg/ml diperoleh nilai $p = 0,011$ dan terhadap kelompok dosis 30 mg/ml dan kelompok dosis 120 mg/ml diperoleh nilai $p = 0,016$. Hal ini menunjukkan bahwa rata-rata jumlah koloni bakteri lebih sedikit pada kelompok dosis empat kali lipat secara bermakna dibandingkan kelompok dosis yang dibandingkan. Analisis *Post-Hoc* LSD terakhir dilakukan terhadap kelompok dosis delapan kali lipat dengan kelompok dosis yang dibandingkan. Analisis *Post-Hoc* LSD terhadap kelompok dosis 15 mg/ml dan kelompok dosis 120 mg/ml diperoleh nilai $p < 0,001$ yang menunjukkan bahwa rata-rata jumlah koloni bakteri lebih sedikit pada kelompok dosis delapan kali lipat secara bermakna daripada kelompok dosis yang dibandingkan.

Pembahasan

Isolasi Bakteri dari Usap Rektal pada Tikus KEP

KEP merupakan salah satu penyebab terjadinya peningkatan morbiditas dan mortalitas dari kejadian infeksi saluran pencernaan pada anak-anak. Peningkatan kejadian infeksi saluran pencernaan pada anak-anak dengan KEP disebabkan oleh penurunan sistem imun. KEP menginduksi terjadinya penurunan sistem imun melalui penurunan jumlah dari limfosit T (Imunitas selular), berkurangnya aktivitas fagosit oleh makrofag, produksi komplemen dan sitokin yang berkurang, serta berkurangnya pertahanan sistem imun non-spesifik terhadap toksin bakteri.^{19,20} Mekanisme terjadinya penurunan sistem imun pada malnutrisi sampai sekarang belum diketahui secara pasti. Manary *et al* pada tahun 2004 menyatakan bahwa sistem imun spesifik maupun

sistem imun non-spesifik dalam fungsi memberikan respon imun, memerlukan aktivitas tertentu yaitu aktivasi dan proliferasi dari sel imun melalui sintesis molekul untuk keperluan replikasi DNA dan ekspresi RNA, sekresi dan sintesis protein, serta proses katabolisme energi tambahan. Aktivitas-aktivitas tersebut memerlukan kebutuhan energi dan protein yang adekuat. Keadaan KEP menyebabkan kebutuhan energi dan protein yang dibutuhkan sistem imun tersebut tidak adekuat untuk menjalankan aktivitasnya sehingga terjadi penurunan sistem imun.²¹ Hipotesis yang berbeda dinyatakan oleh Monk *et al* pada tahun 2011 yaitu hipotesis toleransi. Monk *et al* menyatakan bahwa penurunan sistem imun pada KEP adalah suatu respon adaptasi untuk mencegah reaksi auto imun yang disebabkan oleh proses katabolisme dan pelepasan *self-antigen*.²² Penurunan sistem imun pada KEP akan memicu terjadinya kolonisasi bakteri pada saluran pencernaan. Bakteri yang memiliki laju kolonisasi lebih tinggi adalah bakteri famili *Enterobacteriaceae* (enterik) bila dibandingkan dengan bakteri gram positif.^{8,19}

Hasil pada penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri famili *Enterobacteriaceae* yang berhasil di isolasi pada tikus putih galur *Sprague dawley* dengan KEP adalah bakteri *Escherichia coli*. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Omoike *et al* terhadap anak di Nigeria dengan KEP yang menunjukkan bahwa jumlah kuantitatif dari bakteri enterik terutama *Escherichia coli* dan *Klebsiella sp.* di usus pada anak dengan malnutrisi lebih banyak (³²Log10 CFU/ml) dibandingkan dengan bakteri gram positif (¹³Log10 CFU/ml).¹⁰ Penelitian lain yang dilakukan oleh Deitch *et al* pada tikus dengan KEP juga menunjukkan bahwa hasil isolasi bakteri terbanyak pada tikus KEP adalah bakteri *Escherichia coli* dan di ikuti oleh bakteri *Klebsiella sp.*²³ *Escherichia coli* merupakan salah satu mikroorganisme flora normal yang terdapat pada saluran pencernaan mamalia dan jumlahnya pada saluran pencernaan mendekati 100% dibandingkan dengan flora normal bakteri famili *Enterobacteriaceae* lainnya.^{24,25} Keadaan KEP menyebabkan peningkatan kolonisasi bakteri *Escherichia coli* yang lebih tinggi dibandingkan dengan peningkatan kolonisasi bakteri enterik lainnya.^{10,23}

Aktivitas Anti Bakteri Infusa Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.)

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada penelitian ini tidak dapat ditentukan karena pada kelompok dosis 15 mg/ml, 30 mg/ml, 60 mg/ml, dan 120 mg/ml yang telah diinkubasi selama 24 jam menunjukkan penampakan keruh. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada penelitian ini juga tidak

dapat ditentukan karena kelompok dosis tertinggi yaitu kelompok dosis 120 mg/ml masih menunjukkan pertumbuhan bakteri.

Hasil analisis statistik yang dilakukan terhadap infusa daun mangga bacang terhadap anggota famili *Enterobacteriaceae* yaitu *Escherichia coli* menunjukkan bahwa rata-rata jumlah koloni bakteri pada kelompok dosis 15 mg/ml, 30 mg/ml, 60 mg/ml dan 120 mg/ml lebih sedikit secara bermakna dibandingkan dengan rata-rata jumlah koloni bakteri pada kontrol positif ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa infusa daun mangga bacang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Hal ini didukung oleh penelitian Nuryanto pada tahun 2014 yang menggunakan metode difusi cakram dan membuktikan bahwa ekstrak etanol daun mangga bacang sudah memiliki aktivitas antibakteri sedang terhadap bakteri *Escherichia coli* pada dosis 7,8125 mg/ml. Penelitian De *et al* pada tahun 2014 juga membuktikan bahwa infusa *Mangifera indica* L. yang merupakan tanaman satu genus dengan mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) memiliki efek sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* pada dosis 15 mg/ml.^{12,26}

Rata-rata jumlah koloni bakteri pada setiap kelompok dosis juga terus berkurang seiring dengan peningkatan dosis yang diberikan. Hasil analisis statistik terhadap peningkatan dosis sebanyak dua kali lipat tidak menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni secara bermakna, sedangkan pada analisis statistik terhadap peningkatan dosis sebanyak empat kali lipat dan delapan kali lipat menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni secara bermakna. Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Nuryanto pada tahun 2014 yang menggunakan ekstrak etanol daun mangga bacang pada bakteri *Escherichia coli*. Penelitian Nuryanto menunjukkan bahwa pada setiap peningkatan dosis dua kali lipat dari pada dosis sebelumnya terdapat perluasan zona hambat secara bermakna. Perbedaan pada kedua penelitian ini disebabkan oleh adanya perbedaan metode ekstraksi daun mangga bacang. Metode ekstraksi etanol dapat menarik metabolit sekunder yang lebih banyak dan lebih spesifik bila dibandingkan dengan metode ekstraksi air (infusa).^{12,27} Hasil analisis statistik juga menunjukkan bahwa peningkatan dosis delapan kali lipat ($p < 0,001$) akan lebih efektif bila dibandingkan dengan peningkatan dosis empat kali lipat ($p = 0,011$ dan $p = 0,016$). Metabolit sekunder pada infusa daun mangga bacang pada dosis yang lebih tinggi akan lebih banyak tersaring bila dibandingkan dengan infusa daun mangga bacang dengan dosis yang lebih rendah.²⁷

Metode *pour plate* menunjukkan bahwa infusa daun mangga bacang memiliki aktivitas antibakteri yang lemah dimana infusa daun mangga bacang dapat mengurangi viabilitas dari bakteri *Escherichia coli* yang dapat dilihat dari rata-rata jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* yang lebih sedikit secara bermakna bila dibandingkan dengan kontrol positif ($p < 0,05$).

Aktivitas antibakteri dari infusa daun mangga bacang diduga merupakan efek dari metabolit sekunder berupa alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, dan saponin. Mekanisme antibakteri senyawa alkaloid yaitu dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri. Alkaloid juga dapat bekerja sebagai antibakteri dengan cara menghambat enzim topoisomerase sehingga sintesis asam nukleat bakteri terhambat.^{28,29} Mekanisme antibakteri senyawa fenol yaitu dengan cara mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein sel bakteri mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab kedua struktur tersebut tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel, sehingga sel menjadi lisis.³⁰

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dapat dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat metabolisme energi. Mekanisme flavonoid dalam menghambat sintesis asam nukleat adalah dengan menumpuk basa asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA melalui cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkalasi atau ikatan hidrogen. Letak gugus hidroksil di posisi 2',4' atau 2',6' dihidroksilasi pada cincin B dan 5,7 dihidroksilasi pada cincin A berperan penting terhadap aktivitas antibakteri flavonoid. Flavonoid menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, dan lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri.^{31,32} Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat fungsi membran sel adalah flavonoid membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri sehingga membran sel bakteri menjadi rusak dan senyawa intraseluler keluar dari dalam sel. Penelitian lain menyatakan bahwa mekanisme flavonoid dalam menghambat fungsi membran sel adalah dengan mengganggu

permeabilitas membran sel dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan phospholipase. Mekanisme flavonoid dalam menghambat metabolisme energi adalah dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat kerja enzim sitokrom C reduktase sehingga proses metabolisme energi yang dibutuhkan bakteri untuk biosintesis makromolekul terhambat.^{32,33}

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel bakteri. Zat aktif permukaan saponin mirip dengan detergen yang mana dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran sel. Saponin berdifusi melalui membran sel yang rentan dan kemudian berikatan dengan membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sitoplasma. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel.³⁴⁻³⁶

Mekanisme kerja antibakteri tanin melalui penghambatan pembentukan dinding sel bakteri dan inaktivasi fungsi materi genetik. Penghambatan pembentukan dinding sel oleh tanin dengan cara tanin berikatan dengan polipeptida yang merupakan salah satu komponen penting penyusun dinding sel bakteri sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati. Penghambatan kerja dari enzim *reverse transcriptase* dan enzim DNA topoisomerase yang berperan dalam penyusunan dinding sel bakteri menyebabkan dinding sel bakteri tidak dapat terbentuk. Peneliti Wang LH *et al* pada tahun 2003 menyatakan bahwa mekanisme tanin dalam menghambat enzim *reverse transcriptase* dan enzim topoisomerase diduga melalui pengurangan ketersediaan substrat dan kofaktor enzim yang diperlukan untuk kerja kedua enzim tersebut. Salah satu kofaktor enzim penting yang diperlukan bakteri dalam mengaktifkan kerja dari enzim *reverse transcriptase* dan enzim topoisomerase adalah zat besi. Tanin memiliki kapasitas pengikat besi yang kuat dibandingkan dengan *siderophore* bakteri sehingga bakteri akan kekurangan zat besi untuk mengaktifkan kerja dari enzim *reverse transcriptase* dan enzim topoisomerase.^{33, 35, 37,38.}

KESIMPULAN

Infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap anggota bakteri famili *Enterobacteriaceae* yaitu

Escherichia coli yang diisolasi dari usap rektal tikus *Sprague dawley* dengan KEP dan didapatkan kelompok dosis 120 mg/ml merupakan dosis efektif dibandingkan dengan kelompok dosis 15 mg/ml, 30 mg/ml, dan 60 mg/ml. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum dari infusa daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) tidak dapat ditentukan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Departemen Kesehatan RI. Profil Kesehatan Indonesia 2012. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 2012: 372. Tersedia dari <http://depkes.go.id/> Diunduh pada tanggal 24 Maret 2014.
2. RISKESDAS. Profil Kesehatan Provinsi Kalimantan Barat 2012. Pontianak: RISKESDAS; 2012. h. 28.
3. Beck ME. Ilmu Gizi dan Diet: Masalah Gizi di Indonesia dan Upaya Penanggulangannya. Yogyakarta: Yayasan Essentia Medica; 2011. h. 205.
4. Ross AC, *et al.* Modern Nutrition in Health & Disease: Protein-Energy Malnutrition. 11th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2014. p. 894-905
5. Pelletier D. The Potentiating Effects of Malnutrition on Child Mortality: Epidemiologic Evidence and Policy Implications. *Nutritional Review*. 1994; 52: 409-415.
6. Pelletier D, Frongillo EA. Changes in Child Survival Are Strongly Associated with Changes in Malnutrition in Developing Countries. *Journal of Nutrition*. 2003; 133: 107-119.
7. Benguigui Y, Stein F. Integrated Management of Childhood Illness: An Emphasis on the Management of Infectious Disease. *Sem. Pediatr. Infect. Dis.* 2006; 17: 80-98.
8. Markel TA, Crisostomo PR, Wang M, *et al.* The Struggle for Iron: Gastrointestinal Microbes Modulate the Host Immune Response During Infection. *Journal of Leukocyte Biology*. 2007; 81: 393.
9. Edwin A, Deitch MD, Winterton J, *et al.* The Gut As a Portal of entry for Bacteremia: Role of Protein Malnutrition. *JAMA*. 1986; 98: 681.
10. Omoike IU, Abiodun PO. Upper Small Intestinal Microflora in Diarrhea and Malnutrition in Nigerian Children. *Journal of Pedriatic Gastroenterology and Nutrition*. 1989; 9: 314-321.
11. Purwaningsih EH, Hanani E, Amalia P, Krisnamurti DGB. The Chelating Effect of *Mangifera foetida* Water Extract on Serum Thalassemic Patients. *J Indon Med Assoc*. 2011; 61(8): 321-325.

12. Nuryanto A. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera Foetida L.*) Terhadap *Escherichia Coli* Secara In Vitro [Skripsi]. Universitas Tanjungpura. 2014.
13. Soemarno. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik. Yogyakarta: Akademi Analisis Kesehatan Republik Indonesia; 2000. h. 15-16, 48-50.
14. Syahrurachman A, Chatim A, Soebandrio A, karuniawati A, Santoso AUS, *et al.* Buku Ajar Mikrobiologi kedokteran. Jakarta: Binarupa Aksara; 2011. h. 185-95.
15. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg. Edisi 23. Jakarta: EGC; 2007. h. 251-265.
16. Irving W, Ala'Aldeen D, Boswell T. Medical Microbiology: Enterobacteriaceae. Nottingham: Taylor & Francis. p. 133-139.
17. Syahrurachman A, Chatim A, Soebandrio A, karuniawati A, Santoso AUS, *et al.* Buku Ajar Mikrobiologi kedokteran. Jakarta: Binarupa Aksara; 2011. h. 185-95.
18. Soemarno. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik. Yogyakarta: Akademi Analisis Kesehatan Republik Indonesia; 2000. h. 15-16, 48-50.
19. Scrimshaw NS, Taylor CE, Gordon JE. Interactions of Nutrition and Infection. Geneva: World Health Organization; 1968. p. 13-4.
20. Masrizal MA. Effects of Protein-Energy Malnutrition on the Immune System. Makara Sains. 2003; 7(2): 69-73.
21. Manary MJ, Yarasheski KE, Smith S, Abrams ET, Hart CA. Protein Quantity, not Protein Quality, Accelerates Whole-Body Leucine Kinetics and the Acute-Phase Response During Acute Infection in Marasmic Malawian Children. Br J Nutr. 2004; 92: 589–595.
22. Monk JM, Richard CL, Woodward B. A Non-Inflammatory Form of Immune Competence Prevails in Acute Pre-Pubescent Malnutrition: New Evidence Based on Critical mRNA Transcripts in the Mouse. Br J Nutr. 2011; 10: 1–5.
23. Edwin A, Deitch MD, Winterton J, *et al.* The Gut As a Portal of entry for Bacteremia: Role of Protein Malnutrition. JAMA. 1986; 98: 681.
24. Johnson AG, Ziegler RJ, Hawley L. Essential Microbiology and Immunology. Edisi ke-5. Jakarta: Binarupa Aksara; 2011. h. 21-61.
25. Nowrouzian F, Hesselmar B, Saalman R, Strannegard IL, Aberg N, Wold AE, Adlerberth I. *Escherichia coli* in Infant's Intestinal Microflora: Colonization Rate, Strain Turnover, and Virulence Gene Carriage. Ped Research Foundation. 2003; 54(1): 8-14.

26. De PK, Pal A. 2014 De PK, Pal A. Effects of Aqueous Young Leaves Extract of *Mangifera indica* on gm (-) Microorganisms Causing Gastro-Intestinal Disorders. Pelagia Research Library. 2014; 4(1): 23-27.
27. Septiana AT, Ari A. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum Duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. Agroontek. 2012; 6(1): 1-7.
28. Rachmawaty FJ, Citra DA, Nirwani B, Nurmasitoh T, Wibowo ET. Manfaat Sirih Merah (*Piper Crocatum*) sebagai Agen Anti Bakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif. Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia. 2009.
29. Karou D, Savadogo A, Canini A, Yameogo S, Montesano C, Simpore J, *et al.* Antibacterial Activity of Alkaloids from *Sida acuta*. Academic Journals. 2006; 5(2): 195-200.
30. Palczar JM, Chan ECS. Dasar-dasar Mikrobiologi. Jakarta: Badan Penerbit UI Press; 1988.
31. Hendra R, Ahmad S, Sukari A, Shukor MY, Oskoueian E. Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of Phaleria Macrocarpa (*Scheff.*) Boerl fruit. Int J Mol Sci. 2011; 12: 3422-31.
32. Cushnie TP, Tim L, Andrew J. Antimicrobial Activity of Flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents. 2005; 26: 343-56.
33. Nuria MC, Sumantri FA. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923, *Escherichia Coli* Atcc 25922, dan *Salmonella Typhi* Atcc 1408. Mediagro. 2009; 5(2): 26–37.
34. Madduluri S, Rao KB, Sitaram B. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indegenous Plants Extract Against Five Bacterial Pathogens of Human. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2013; 5(4): 679-84.
35. Cavalieri SJ, Rankin ID, Harbeck RJ, Sautter RS, McCarter YS, Sharp SE, Ortez JH, Spiegel CA. Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. USA: American Society for Microbiology; 2005.
36. Harborne JB. Metode Fitokimia. Bandung: Penerbit ITB; 1987.
37. Wang LH, Liu ZY. Review in the Studies on Tannins Activity of Cancer Prevention and Anticancer. Zhong-Yao-Cai. 2003; 26(6): 444-8.
38. Sari FP, Sari SM. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida Linn*) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami [Skripsi]. Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. 2011.